

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-93090

(P2003-93090A)

(43) 公開日 平成15年4月2日(2003.4.2)

(51) Int.Cl.⁷
C 1 2 P 19/04

識別記号

F I
C 1 2 P 19/04

データベース*(参考)
Z 4 B 0 6 4

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2001-293066(P2001-293066)

(22) 出願日 平成13年9月26日(2001.9.26)

(71) 出願人 591024270

フジ製糖株式会社

静岡県清水市清開1丁目4番10号

(72) 発明者 和田 正

静岡県静岡市聖一色659-1

(72) 発明者 大口 真央

静岡県静岡市西脇1104-1

(74) 代理人 100091096

弁理士 平木 祐輔 (外2名)

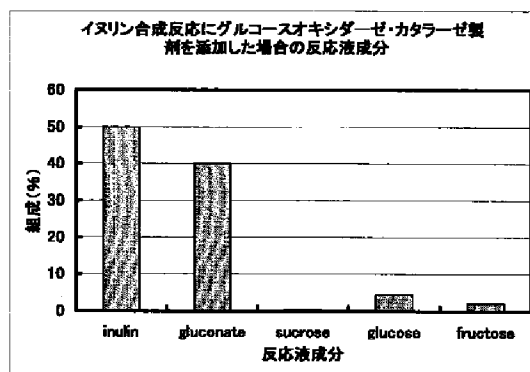
Fターム(参考) 4B064 AF11 CA02 CA21 CB30 CC04
CC09 CD09 CD30 DA16

(54) 【発明の名称】 イヌリンの製造方法

(57) 【要約】

【課題】 イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、スクロースからイヌリンへの収率を高めるとともに、副生されるグルコースを実利用上望ましい物質に変換し得る、イヌリンの製造方法の提供。

【解決手段】 イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることを特徴とするイヌリンの製造方法。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることを特徴とするイヌリンの製造方法。

【請求項2】 グルコース量を、酵素反応を用いて別の物質に変換することを特徴とする、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 グルコースをフラクトースに変換する、請求項2に記載の製造方法。

【請求項4】 グルコースをフラクトースに変換する酵素がグルコースイソメラーゼである、請求項3に記載の製造方法。

【請求項5】 グルコースをグルコン酸に変換する、請求項2に記載の製造方法。

【請求項6】 グルコースをグルコン酸に変換する酵素がグルコースオキシダーゼである、請求項5に記載の製造方法。

【請求項7】 さらに、カラターゼを添加することを特徴とする、請求項6に記載の製造方法。

【請求項8】 副生物であるグルコース量の低下を、イヌリン合成反応が平衡状態に達した段階で行うことを特徴とする、請求項1～7のいずれか1項に記載のイヌリンの製造方法。

【請求項9】 イヌリン合成酵素が、スクロースに作用してイヌリンを生成するが、ケストース、マルトース、ラクトース、トレハロース、セロビオースには作用しない作用及び基質特異性を有するものであることを特徴とする請求項1～8のいずれか1項に記載の製造方法。

【請求項10】 イヌリン合成酵素が、該酵素を産生する微生物の培養液若しくは培養菌体、又はその処理物であることを特徴とする請求項1～9のいずれか1項に記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることを特徴とするイヌリンの製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】イヌリンとは多糖類の一種で、広く自然界に分布しており、ダリア、キクイモ、オグルマなどのキク科植物の塊茎やチコリの根などにコロイド状で存在していることが知られている。その性質は、澱粉とは異なり温水中に溶解、その構造はスクロースのフラクトース側にD-フラクトフラノースが β -(2 \rightarrow 1)結合で順次脱水重合したものである。その重合度はフラクトースの鎖長により異なり、植物由来のイヌリンの場合、8から60

程度とされている。

【0003】イヌリンは、水溶性の難消化性の食物繊維であるため、ダイエタリーファイバーとして着目されており、さらにビフィズス菌の増殖効果などがあるため、近年の健康志向ブームとあいまって需要は伸びつつある。従来、イヌリンは主として海外で生産されている。海外では、チコリやキクイモといった植物を栽培してその根茎からの搾汁液を乾燥することにより製造され、一般的な食材として利用されている。一方、わが国においてはそれらの植物の商業的栽培が困難であるため、イヌリンは製造されていない。

【0004】そのため、イヌリンの入手は輸入に頼らざるを得ず、価格も国産の類似機能を有する物質よりも高価であり、産業利用上の障壁となっている。また、植物由来のイヌリンは、抽出原料が植物であるがゆえに収量が作物によって左右され、その上収穫後直ちに抽出を行わなければ自己消化などによりイヌリン含量が目減りするといった問題を有する。

【0005】さらに、植物由来のイヌリンの場合、植物搾汁液を大雑把に分画した後、噴霧乾燥して商品化したものであるため、イヌリンの重合度が植物本来の性質に左右され、重合度の値の幅が広いイヌリンしか得られず、均一性に欠けるといった課題がある。また、イヌリンの利用上の問題においては、重合度の高い画分、例えば、市販されている平均重合度23のイヌリンの場合、水に対する溶解性が悪く、加熱しなければ溶解しないため、実利用において好ましくない状況を引き起こすといった課題もある。

【0006】ところで、イヌリンを製造する方法としては、先述した植物からの抽出以外に、イヌリン合成酵素を利用して化学的にイヌリン又はイヌリン類似物を製造する方法がある。例えば、植物から抽出して得られた酵素を使用してスクロースからイヌリンを生成する方法がM.Luscherらによって報告されている(FEBS letter 385, 39(1996))。この方法は、スクロース：スクロース1-フルクトシルトランスフェラーゼ(SST)及び β -(2 \rightarrow 1)フルクタン： β -(2 \rightarrow 1)フルクタン1-フルクトシルトランスフェラーゼ(FFT)の2種の酵素の共同作用によるものである。しかしながら、植物体から酵素を大量に調製するのは時間と労力を要し、工業規模での利用は現実的ではない。

【0007】また、微生物の酵素を作用させたイヌリン類似物の製造方法が報告されている。例えば、アスペルギルス・シドウィ(Aspergillus sydowi)の分生胞子又は菌体処理してイヌリンタイプの構造を有する物質を得る方法が開示されている(J.Biol.Chem., 43, 171(1920); Agric.Biol.Chem., 37, (9), 2111, (1973); 特開昭61-187797; 特開平5-308885)。さらに、アスペルギルス(Aspergillus)属又はフザリウム(Fusarium)属に属する微生物の産生する酵素がイヌリン類似物を生成

すること、ストレプトコッカス・ミュータンス(*Streptococcus mutans*)に属する微生物の産生する酵素がイヌリン類似物を生成することが報告されている(特願昭55-40193; *Acta.Chem.Scand.*, B28, 589)。しかしながら、これらの微生物によって産生される酵素を用いて生成される物質は、イヌリン構造に類似した物質ではあるが、植物由来のイヌリンと比べてその分子が巨大であるか、結合形式が異なる物質であり、イヌリンを生成する方法ではない。

【0008】微生物由来の酵素を利用してイヌリンを生成する方法としては、本発明者らが出願したPCT/JP01/01133に記載の方法がある。これは、スクロースを原料として、これに新規イヌリン合成酵素を作用させて比較的重合度のそろったイヌリンを製造する方法である。この方法では、微生物由来の酵素を利用してイヌリンを生成するという目的が達成され、植物から抽出したイヌリンと比べて比較的均一な平均重合度のイヌリンを得ることができた(平均重合度8~20)。しかしながら、この反応は平衡反応であり、理論的には、スクロースからイヌリンへの収率は50%であるが、実際には、スクロースの濃度が反応液組成のおよそ10%にまで低下すると、反応は見かけ上停止した状態となってそれ以上進行しなくなり、スクロースからイヌリンへの収率は45~46%が限界である。したがって、収率的には必ずしも満足できるとはいえない。また、スクロースをイヌリン合成酵素に接触させるとイヌリンの生成と同時にグルコースが副生される。そのグルコースはそのまま回収して商業的に活用できればよいが、現実的には実用上必ずしも望ましいとはいえない。さらに、製造後、未消化分のスクロースとグルコースを分離・精製する際、効率よく完全に分離するには時間的な面でロスが大きいという課題もある。

【0009】このため、スクロースからイヌリンへの収率を高めるとともに、副生物グルコースを有効に処理する方法が望まれているが、これまで、このような課題を解決する方法は報告されていない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、スクロースからイヌリンへの変換効率を高めるとともに、副生されるグルコースを実利用上有用な物質に変換する方法を提供することを課題とする。

【0011】

【問題を解決するための手段】上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることができることを見出し、本発明を完成した。

【0012】すなわち、本発明は、以下の(1)~(8)を提供する。

(1) イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることを特徴とするイヌリンの製造方法。

(2) グルコース量を、酵素反応を用いて別の物質に変換することを特徴とする、(1)に記載の方法。

(3) グルコースをフラクトースに変換する、(2)に記載の製造方法。

【0013】(4) グルコースをフラクトースに変換する酵素がグルコースイソメラーゼである、(3)に記載の製造方法。

(5) グルコースをグルコン酸に変換する、(2)に記載の製造方法。

(6) グルコースをグルコン酸に変換する酵素がグルコースオキシダーゼである、(5)に記載の製造方法。

【0014】(7) さらに、カラターゼを添加することを特徴とする、(6)に記載の製造方法。

(8) 副生物であるグルコース量の低下を、イヌリン合成反応が平衡状態に達した段階で行うことを特徴とする、(1)~(7)のいずれか1項に記載のイヌリンの製造方法。

(9) イヌリン合成酵素が、スクロースに作用してイヌリンを生成するが、ケストース、マルトース、ラクトース、トレハロース、セロビオースには作用しない作用及び基質特異性を有するものであることを特徴とする(1)~(8)のいずれか1項に記載の製造方法。

(10) イヌリン合成酵素が、該酵素を産生する微生物の培養液若しくは培養菌体、又はその処理物であることを特徴とする(1)~(9)のいずれか1項に記載の製造方法。

【0015】

【発明実施の形態】本発明のイヌリンの製造方法について、以下にさらに詳しく説明する。本発明は、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることを特徴とするイヌリンの製造方法である。

【0016】上記において、イヌリン合成酵素を「スクロースに接触させる」とは、スクロースを炭素源として含有する培地等にイヌリン合成酵素を添加し、これらが反応液中でスクロースを基質としてイヌリンを生成し得る条件下で反応させることを意味する。

【0017】ここで、イヌリン合成酵素は、スクロースをイヌリンに変換することができる基質特異性を有する酵素であればいずれの酵素をも使用することができる。その一例として、スクロースに作用してイヌリンを生成するが、ケストース、マルトース、ラクトース、トレハ

ロース、セロビオースには作用しない作用及び基質特異性を有するイヌリン合成酵素が挙げられる。

【0018】また、イヌリン合成酵素として、該酵素を産生する微生物の培養液若しくは培養菌体、又はその処理物も含まれる。ここで、培養菌体とは、適切な条件下で培養された前記微生物を意味し、生菌であっても凍結乾燥されていてもよく、あるいはまたアセトンパウダー等の形態であってもよい。また、培養菌体処理物とは、本発明の酵素をその機能を失うことなく採取できるものであれば特に限定されないが、例えば、上記培養菌体の破砕物、菌体抽出液、固定化菌体等を意味する。ここで、培養菌体の破砕物及び菌体抽出液とは、該菌体を公知の破砕方法、例えば、超音波破砕法、ダイノミル破砕法、フレンチプレス破砕法により破砕して得られる物質及び抽出液を意味する。また、固定化菌体とは、公知の固定化法、例えば、包括法、担体結合法で前記菌体を固定化し、必要に応じて架橋したものを意味する。包括法としては、カラギーナンやアルギン酸等の天然高分子を用いる方法が挙げられる。

【0019】上記イヌリン合成酵素のうち、スクロースに作用してイヌリンを生成するが、kestose、maltose、lactose、trehalose、cellobioseには作用しない作用及び基質特異性を有するイヌリン合成酵素微生物から得られるイヌリン合成酵素としては、具体的には、PCT/JP01/01133に記載されているバチラスsp.217C-11株 (FERM BP-7450) の培養液若しくは培養菌体又はその処理物から得られるものを用いることができる。

【0020】このバチラス (Bacillus) sp.217C-11株の培養及び酵素の調整方法について、以下に簡単に説明する。培地に添加する炭素源としては、通常使用されるものを適当な濃度で使用すればよい。例えば、スクロース、グルコース、フラクトース、マルトースなどの糖質を単独又は混合して用いることができる。本菌を用いて、スクロースを基質としてイヌリンを生成させる酵素を調製する上で、最も好ましい炭素源はスクロースであり、これを主炭素源とした液体培地を用いて培養を行うことにより該酵素活性は向上する。当然のことながら、粗糖、廃糖蜜等のスクロース含有物を用いてもよい。

【0021】窒素源としては、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーン・ステープ・リカー等の有機窒素源のほか、硫酸、硝酸、リン酸のアンモニウム塩などの無機窒素源を単独又は混合して用いることができる。無機塩類としては、カリウム、ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、マンガン、鉄等の硫酸塩、塩酸塩、炭酸塩、硝酸塩、リン酸塩等をそれぞれ単独で又は組み合わせて用いることができる。さらに必要に応じて、アミノ酸、ビタミンなど通常の培養に用いられる栄養源をなども適宜用いることができる。本発明の方法において使用するのに適した培地としては、スクロース0.5~2% (w/v)、ペプトン1%、酵母エキス0.5%、リン酸2カリウム0.

2%を含むpH7~8の液体培地を用いることが適当である。

【0022】培養は、振とう培養又はジャー・フェーメンターを用いて通気条件下で行うことができる。培地のpHは6~9の範囲が好ましく、培養温度は25℃~37℃の範囲が好ましく、培養時間は微生物が増殖し得る以上の時間であればよく、5~96時間、好ましくは15~72時間である。

【0023】バチラス (Bacillus) sp.217C-11株を先に示した培地で培養後、遠心分離により除菌し、その後培養上清を分画分子量30000の限外濾過膜を用いて濃縮し、反応用の酵素液として使用することができる。

【0024】なお、バチラス (Bacillus) sp.217C-11株由来の酵素を含む、スクロースに作用してイヌリンを生成するが、kestose、maltose、lactose、trehalose、cellobioseには作用しない作用及び基質特異性を有するイヌリン合成酵素は、以下の理化学的性質を有するものである。

【0025】

分子量：45,000~50,000

至適温度：40~50℃

熱安定性：45℃を越えると徐々に失活し始め、50℃で70%、60℃で40%の残存活性を示す。

至適pH：7~8 (45℃)

pH安定性：pH6以上で安定。

【0026】イヌリン合成酵素の濃度は、反応液中のスクロース (基質) を十分に利用し得る濃度であればよく、例えば、スクロース40~60% (w/w) の場合、イヌリン合成酵素の活性が0.4 unit/ml 反応液となる濃度とするのが好ましい。

【0027】スクロースの基質としてイヌリンを生成するのに適切なpHは、pH 6~8の範囲の反応液を用いるのが好ましい。さらに該反応液のpHを保つためにリン酸緩衝液を用いることもできる。反応時間は、イヌリン合成酵素の使用量等により適宜変更することができるが、通常、0.1~100時間、好ましくは、0.5~72時間である。得られるイヌリンの分析方法は、一例として、以下のようにして分析することができる。

【0028】反応液中に生成したイヌリンの分析方法は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により行う。成分分析は、カラムとして、例えば、信和化工製のULTRON PS-80N (8×300mm) を用い、溶媒：水、流速：0.5ml/min、温度：50℃、検出器として示差屈折計を使用する。

【0029】本発明では、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることができる。

【0030】ここで、「副生物であるグルコース量を低下させる」ためには、反応系に支障を与えないものであって、副生されるグルコース量を低下させることができ

る方法であればいずれの方法をも使用することができる。例えば、酵素反応を利用することができる。

【0031】この酵素反応で利用され得る酵素は、基質のグルコースを別の物質に変換し、反応液中のグルコース濃度を低下させ、反応平衡状態を打破して未反応の原料スクロースをイヌリン合成方向へと傾かせることによってイヌリンの収率を増大させることのできるものであればいずれのものでも利用できる。具体的には、グルコースをフラクトースに変換する酵素、又は、グルコースをグルコン酸に変換する酵素がある。

【0032】グルコースをフラクトースに変換する酵素としては、例えば、グルコースイソメラーゼがあり、ナガセ社製のスイターゼやノボ社製のスウィートザイム等市販のグルコースイソメラーゼを利用することができる。このグルコースイソメラーゼをイヌリン合成の反応系に添加した場合、イヌリン合成酵素によって原料スクロースから徐々に遊離されるグルコースは、グルコースイソメラーゼによって速やかにフラクトースに変換され、グルコースイソメラーゼを加えなかった場合の半分の生成量に低下し、グルコース-フラクトースのほぼ等量混合物となる。これによって、原料スクロースからイヌリン合成反応の平衡状態が解消されて反応の方向は常にイヌリン合成側に傾くようになり、平衡状態時に未消化のまま残存していた8~10%の原料スクロースのうち、4~5%分がイヌリン合成に利用されることとなる。その結果、原料スクロースからの反応産物としては、イヌリンとグルコース-フラクトース混合液が得られる。グルコース-フラクトース混合液は、イヌリンとの分離操作の後、異性化糖として利用され得る。

【0033】一方、グルコースをグルコン酸に変換する酵素としては、例えば、グルコースオキシダーゼがあり、ナガセ社製のAN-1、アマノエンザイム社製のハイデラーゼといった市販酵素を利用することができる。この市販酵素には、グルコースオキシダーゼの他にカタラーゼも含まれているため、グルコースオキシダーゼの他に別途カタラーゼを添加する必要がなく、コストを軽減できるという点で非常に好都合である。このグルコースオキシダーゼ及びカタラーゼ等をイヌリン合成の反応系に添加した場合、イヌリン合成酵素によって原料スクロースから徐々に遊離されるグルコースが、グルコースオキシダーゼ及びカタラーゼ等によって速やかにグルコン酸に変換され、グルコースは反応液中からほとんど消失する。これによって、原料スクロースからイヌリン合成反応の平衡状態が解消されて反応の方向は常にイヌリン合成側に傾くようになり、平衡状態時に未消化のまま残存していた8~10%の原料スクロースがすべてイヌリン合成反応の基質として使用されることとなる。その結果、原料スクロースからの反応産物としては、イヌリンとグルコン酸(塩)のみが得られる。グルコン酸(塩)は、回収して、食品添加物、化粧品成分、健康食品、医薬品等

の用途に利用することができる。

【0034】酵素反応等により副生物のグルコース量を低下させるのは、スクロースにイヌリン合成酵素を接触させてイヌリンの生成を開始した後であって、スクロースからイヌリンへの合成が開始され、スクロースの消費が反応によってある程度進んだ時期であれば特に限定されないが、特に好ましくは、イヌリン合成酵素反応が平衡に達した段階である。なお、反応の進行具合についてはHPLCによる成分分析により確認することができる。

10 【0035】グルコースを別の物質に変換する酵素の添加量は、これらの酵素がイヌリン合成の反応系に支障を与えないでグルコース量を低下させる範囲で添加すればよい。具体的な酵素添加量は、反応に用いる原料スクロースの濃度にもよるが、固形スクロース当たり、グルコースイソメラーゼ製剤の場合0.1~2%で十分であり、より好ましくは0.5~1%の範囲で添加すればよい。グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤の場合は0.1~5%で十分であり、より好ましくは0.5~2%の範囲で添加すればよい。

20 【0036】さらに、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、グルコースをグルコン酸に変換する酵素としてグルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤を使用する場合、これらの酵素が酸化酵素であり、反応に酸素が必要となる。そのため、これらの酵素を用いた反応においては、反応液中の溶存酸素濃度を高めるために反応液を高速に攪拌する必要がある。攪拌速度は300~500rpmが好ましい。また、溶存酸素濃度は、原料スクロース濃度や反応温度を調整することによって高めることができる。すなわち、原料スクロース濃度を60%以下、好ましくは40%から25%に調整することによって溶存酸素濃度が高まる。反応温度については、温度が高くなるにつれて溶存酸素濃度が低下するので、45℃前後に設定するのが適当である。さらに、溶存酸素濃度を高めるためには反応液へ曝気を行うことが重要であり、1~2vvmの供給量で実施するのが適当である。

30 【0037】イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、グルコースをグルコン酸に変換する酵素を添加した場合、反応液のpHの調整を行わないとグルコン酸の生成にともなってpHは3以下に低下する。その場合、イヌリン合成反応も停止してしまうため、反応中に中和剤を適宜投入することによってpHを6~7に調整することが必要となる。使用可能な中和剤としては、炭酸カルシウム、水酸化カルシウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどが挙げられる。

50 【0038】生成されたグルコン酸は結晶として回収することができる。その場合、添加した中和剤の塩の形で得られる。例えば、炭酸カルシウム又は水酸化カルシウムを使用した場合はグルコン酸カルシウム、水酸化ナトリ

ウムを使用した場合はグルコン酸ナトリウム、水酸化カリウムを使用した場合は、グルコン酸カリウムが得られる。

【0039】

【実施例】以下に本発明を実施例により具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例1】バチラス (Bacillus) sp.217C-11株からの酵素液の調製

バチラス (Bacillus) sp.217C-11株 (FERM BP-7450) を、スクロース0.5~2% (w/v)、ペプトン1%、酵母エキス0.5%、リン酸2カリウム0.2%、硫酸マグネシウム0.05%を含むpH7~8の液体培地にて30℃で18時間振とう培養した。

【0040】次に、その培養上清に固形の硫酸アンモニウムを加え、70%飽和で沈殿する画分を遠心分離機を使用して集めた。そしてこの沈殿物をpH 7.0の20 mMのリン酸緩衝液に溶解し、透析チューブに入れた後、同緩衝液で十分に透析して酵素の粗酵素液を得た。次いで、常法に従って東ソー株式会社製のTSKgel DEAEトヨパール650、トヨパールHW55、ファルマシア製のセファクリルS-300を使用して、該粗酵素液をイオン交換クロマトグラフィー及びゲル濾過クロマトグラフィーに供することにより、本発明のイヌリン合成酵素を精製した。これを反応用の酵素標品として使用した。

*

グルコースイソメラーゼ	HPLC(組成%)				glucose消失率	DP
	inulin	sucrose	glucose	fructose		
無添加反応	45.1	7.6	44.0	2.2	0	16
添加反応	47.2	3.9	24.7	23.2	48	17

G消失率: $(44-G\%) / 44 \times 100$

DP: 平均重合度

【0045】【実施例3】イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤を添加した場合の反応

750gの原料スクロースに2220gの水、消泡剤 (アデカノール) 0.1mlを加えた原料液を90℃で30分間殺菌し、42℃に冷却後、固形炭酸カルシウム90g、濾過滅菌した25u/mlの実施例1で調製したイヌリン合成酵素36ml、グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤 (ナガセ社製、商品名; AN-1) 4gを添加した。この約3kgの反応液を温度42℃、攪拌400rpm、通気1.6vvmという条件下で24時間反応させた。反応終了後、未消化の炭酸カルシウムを濾過により取り除き、反応産物の成分を調べ、その結果を図1に示した。なお、対照として、グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤を添加しない場合の反応産物の成分を図2に示した。図1及び図2から明らかなように、原料スクロースからのイヌリンの収率は、グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤を添加しない場合には45%程度※50

※【0041】【実施例2】イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、グルコースイソメラーゼを添加した場合の反応

原料スクロース2g、30u/mlの実施例1で調製したイヌリン合成酵素0.1g、グルコースイソメラーゼ (ナガセ社製、商品名; スイターゼ) 40mg、水2.9gを加えた反応液を10ml容の試験管に入れ、55℃、攪拌条件下 (150strokes/min) で28時間反応を行った。その結果を表1に示した。

【0042】グルコースイソメラーゼを添加しない通常の反応の場合は、原料スクロースの残存率は約8%であったが、グルコースイソメラーゼを添加した場合はスクロースの残存率は4%に減少し、イヌリンの収率も45%が47%に増加し、反応効率の向上が確認された。また、平均重合度もグルコースイソメラーゼの添加により高まることが確認された。

【0043】また、グルコースイソメラーゼの作用により、48%のグルコースが消失し、グルコースとフラクトースの比率はほぼ1:1となり、グルコース-フラクトース混合液へのさらなる利用が期待される。

【0044】

【表1】

※であったのに対し、実施例3の製法においては50%に向上した。さらに、グルコースがグルコン酸へほぼ完全に変換されたことによりイヌリン合成反応の平衡が解消され、通常の反応では8~10%残存する原料スクロースもほぼ完全にイヌリン合成のため消費された。その結果、反応液中に主として生成された物質はイヌリンとグルコン酸のみになった。

【0046】

【発明の効果】本発明により、イヌリン合成酵素をスクロースに接触させてイヌリンを生成するイヌリンの製造方法において、副生物であるグルコース量を低下させることによってイヌリンの収率を増大させることができる。また、これまで、イヌリンの製造工程において生じていた反応副生物のグルコースがグルコース-フラクトース混合液、グルコン酸等に変換されることによって、実用上望ましい物質として回収されることが可能となった。さらに、製造後、生成物の分離・精製が効率よく行われるようになるので経済効果も大きくなり、結果と

して、安価なイヌリンの製造方法を確認することができた。

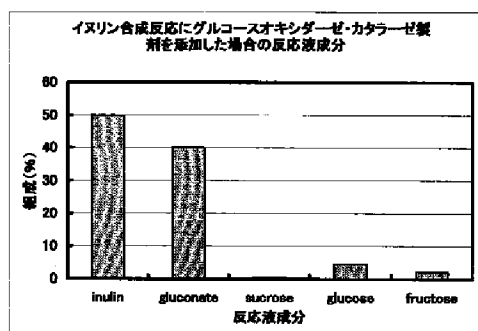
【図面の簡単な説明】

【図1】イヌリンの製造方法において、グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤を添加した場合の反応液中成

分を示す図である。

【図2】イヌリンの製造方法において、グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ製剤を添加しない場合の反応液中成分を示す図である。

【図1】



【図2】

